

DERWENT-ACC-NO: 1989-071639

DERWENT-WEEK: 198910

COPYRIGHT 1999 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Preservation of insect parasitic nematodes - using
sphagnum or peat-moss in presence of moisture-retaining
material

PATENT-ASSIGNEE: OJI PAPER CO[OJIP]

PRIORITY-DATA: 1987JP-0175927 (July 16, 1987)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES
MAIN-IPC			
JP 01022802 A	January 25, 1989	N/A	004
N/A			

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DESCRIPTOR	APPL-NO	
APPL-DATE			
JP 01022802A	N/A	1987JP-0175927	July 16, 1987

INT-CL (IPC): A01N001/00

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 01022802A

BASIC-ABSTRACT:

Preservation of insect parasitic nematodes comprises using sphagnum or peat-moss in the presence of moisture retaining material. Content of moisture retaining material and prepn. process are also claimed.

Insect parasitic nematodes include order of Rhabditida, genera of

Steinernema

and Heterorhabditis, e.g. Steinernema feltiae (DD-136. Mexican. All), S. babbionis, S. glaseri, Heterorhabditis heliothidis. Sphagnum or peat-moss can

be obtained naturally or by cultivation and generally supplied in living or dried

products. Highly water absorbing polymers can absorb water up to 30-fold water to

their weight and include e.g. starch polyacrylonitrile graft copolymers, bridged polyalkylene oxides, vinyl ester-ethylene unsaturated carboxylic acid copolymers.

USE/ADVANTAGE - Insect parasitic nematodes are useful for the biological

control of harmful insects in agricultural, horticultural and forest industries. The demand for such nematodes is seasonal and limited to mainly a

spring to autumn, however, production of these parasitic nematodes in a short

period of time and in a large quantity is very difficult. Production and reservation of these nematodes throughout the year can respond to the demand.

TITLE-TERMS: PRESERVE INSECT PARASITIC NEMATODE SPHAGNUM
PEAT MOSS PRESENCE

MOIST RETAIN MATERIAL

DERWENT-CLASS: A97 C03

CPI-CODES: A12-W04C; C04-A07D; C04-B04A3; C04-C02B; C04-C03;
C12-N02;

CHEMICAL-CODES:

Chemical Indexing M1 *01*

Fragmentation Code

M423 M430 M720 M782 M903 N137 P002 P330 P341 V754

Registry Numbers

1704X 1724X 1711X 1714X

Chemical Indexing M1 *02*

Fragmentation Code

M423 M430 M782 M903 Q620 V400 V404

Registry Numbers

1704X 1724X 1711X 1714X

Chemical Indexing M1 *03*

Fragmentation Code

H589 H714 H721 J271 L145 M210 M211 M212 M213 M214

M215 M216 M220 M221 M222 M231 M232 M233 M262 M263

M272 M281 M312 M313 M314 M315 M320 M323 M332 M342

M383 M393 M423 M430 M510 M520 M530 M540 M782 M903

Q620 V723 V743

Registry Numbers

1704X 1724X 1711X 1714X

POLYMER-MULTIPUNCH-CODES-AND-KEY-SERIALS:

Key Serials: 0231 3250 3262 0013 1279 1581 2020 0003 0375 1989

0037 0782 1410

0404

Multipunch Codes: 014 028 04- 147 231 336 473 52& 53& 532 533 535

611 688 720

014 034 037 04- 072 074 076 259 52& 53& 532 533 535 611 014 034

04- 066 075 104

155 157 27& 52& 53& 532 533 535 611 014 034 04- 066 074 075 27&

52& 53& 532 533

535 611

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: C1989-031783

⑫ 公開特許公報(A)

昭64-22802

⑬ Int.Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和64年(1989)1月25日

A 01 N 1/00

7215-4H

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 昆虫寄生性線虫の保存法

⑯ 特 願 昭62-175927

⑰ 出 願 昭62(1987)7月16日

⑱ 発 明 者 川 崎 政 治 三重県亀山市能褒野町24-9 王子製紙株式会社林木育種研究所亀山育種場内
 ⑱ 発 明 者 原 口 直 人 三重県亀山市能褒野町24-9 王子製紙株式会社林木育種研究所亀山育種場内
 ⑱ 発 明 者 打 田 和 子 三重県亀山市能褒野町24-9 王子製紙株式会社林木育種研究所亀山育種場内
 ⑲ 出 願 人 王子製紙株式会社 東京都中央区銀座4丁目7番5号
 ⑳ 代 理 人 弁理士 中 本 宏 外2名

明 細 書

1 発明の名称

昆虫寄生性線虫の保存法

2 特許請求の範囲

- 1) 昆虫寄生性線虫を保存するための媒体物として、ミズゴケに保水剤を添加した媒体物を使用することを特徴とする昆虫寄生性線虫の保存法。
- 2) ミズゴケに0.01～0.3重量%の保水剤を混入した媒体物に、昆虫寄生性線虫の懸濁液を添加する特許請求の範囲第1項記載の昆虫寄生性線虫の保存法。
- 3) 保水剤が高吸水性ポリマーである特許請求の範囲第1項記載の昆虫寄生性線虫の保存法。

3 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

昆虫寄生性線虫は、生物的防除手段(生物農薬)として、殺虫剤に利用することが可能な線虫である。本線虫の増殖生産は人工培地を使つて通年行うことが可能であるが、一方殺虫剤と

しての施用は、春から秋までの季節に集中する。しかし、線虫を短期間に大量生産することは極めて困難である。このような線虫の生産とその使用時期との時間的なずれの緩和策として、線虫を高い生存率で、かつ殺虫力を高く維持させて保存することが必要である。

本発明は、このような問題点を解決する線虫の保存法に関するものである。

〔従来技術〕

昆虫寄生性線虫である *Steinernema* 属や、*Heterorhabditis* 属の線虫は、食葉性害虫、穿孔性害虫あるいは、土壌害虫など、実験的には250種類に及ぶ昆虫に感染して、これらを殺虫する能力を持っている(「遺伝」第37巻、第6号(1983年)第31～35頁。「植物防疫」第38巻、第3号(1984年)第44～49頁)。

このような線虫を殺虫剤として利用することは、極めて有効な生物的防除手段として期待される。例えば、合成農薬等を用いていると、

速効性である一方、昆虫に耐性が生じるため、薬剤の使用量を増加しなければならない現状である。その点、線虫による殺虫法のような生物防除法を適用すると、たとえ殺虫効果が若干劣るとしても、長期的に見た場合、合成農薬のような危険性がなく、ひいては人類の生命への危険性も全くない。これは、自然環境に於ける生態系の中で存在する天敵関係を利用していることによる。

これらの線虫は、4～5日で世代を繰り返して増殖するが、途中で食物不足とか過密状態等の不良環境にありと、感染型幼虫という特殊な形態となる。この感染型幼虫は無摂食であるにもかかわらず体内に蓄積されている栄養分を消費しながら活発に動きまわつて、昆虫に接近し、口や肛門、あるいは気門などから昆虫体内に侵入する。さらに腸壁等を通つて血体腔に達すると、線虫体内に保持していた病原性を持つ共生細菌が放出され、昆虫に敗血症を発病させて死に至らしめる。

これまでのこのような線虫の保存方法としては、生産した線虫を、ガーゼあるいはポリウレタンスポンジなどを媒体物として、低温下で短期間保存している。

また、低温で十分酸素を供給すれば、1年間保存できる(植物防疫、第38巻、第3号(1984年)第47頁)とされているが、輸送や現場での保存を考慮するならば実用性に乏しい。

本発明者等は、昆虫寄生性線虫の大量増殖法の研究を重ねつゝ(特願昭60-273382号)。(特願昭62-41411号)、線虫保存法について研究を行つた結果、ミズゴケを媒体物として使用方法を完成させた。

そして、更に引き続き研究を重ねた結果、ミズゴケに例えば高吸水性ポリマー系の保水剤を混入することにより、ミズゴケの保水能力が一層増大して、昆虫寄生性線虫の長期保存媒体物として極めて有効であることを見だし、本発明をなすに至つた。

このような殺虫メカニズムによつて殺虫効果を発揮する昆虫寄生性線虫はドックフード培地(九州病害虫研究会報Vol.30(1984年)第120頁)、チャンガット培地(特願昭60-273382号)あるいはサナギ粉培地(特願昭61-41411号)などによつて大量に、かつ時期を問わず増殖、生産することができる。

一方、このように増殖、生産された線虫を、生物的防除剤として施用するには、増殖培地で生産された線虫を直ちに回収し使用しなければならない。増殖培地上に長期間放置すると線虫は体内に蓄積された栄養分を消費し死滅していく。また、雑菌も発生しやすく、感染型幼虫の減少と共に、殺虫能力も低下する。

一方対象害虫の発生時期は、春から秋までの時期に集中する。しかし、線虫を短期間に大量生産することは極めて困難である。

このため、線虫を高い生存率で、かつ殺虫力を高く維持する保存法が最も重要となるものである。

なお、保水剤は、1974年に米国農務省によつて発見され、現在の主要用途は衛生材料(生理用品、紙オムツ等)として、また園芸分野では、果実の鮮度保持剤として利用されている(農耕および園芸)第61巻、第8号、第63頁、1986年)。

[発明が解決しようとする問題点]

本発明は、従来の昆虫寄生性線虫の保存方法が、線虫の生存に対して有効でない点を解決して、長期間にわたつて昆虫寄生性線虫を高い生存率で、かつ高い殺虫力を維持して保存することを目的とする。

[問題点を解決するための手段]

本発明は、Rhabditida目のSteinernema属および、Heterorhabditis属等の昆虫寄生性線虫をミズゴケに保水剤を添加した媒体物に保存する方法である。

以下、本発明に用いる保水剤および昆虫寄生性線虫の種類、保存方法、殺虫力の検定等について詳しく説明する。

保水剤

本発明に使用する保水剤としての高吸水性ポリマーとは、吸湿性に曇み、水に接して多量の水を吸収し、自重の30倍以上の吸水能を有する物質である。例えば、特公昭49-43395号公報が開示する股粉-ポリアクリロニトリルグラフト共重合体、特公昭51-39672号公報が開示する架橋ポリアルキレンオキシド、特公昭53-13495号公報が開示するビニルエステル-エチレン系不飽和カルボン酸共重合体ケン化物、特公昭54-30710号公報が開示する逆相懸濁重合法によつて得られる自己架橋ポリアクリル酸塩、特開昭54-20093号公報が開示するポリビニルアルコール系重合体と環状無水物との反応生成物、特開昭55-84304号公報が開示するポリアクリル酸塩架橋物などを挙げることができる。

吸湿剤としては各種の無機物が公知であるが、高吸水性ポリマーは、多湿下においては、これら無機物よりも数倍以上の吸湿能力を持つ上に、

蕨類に属する植物(牧野新植物図鑑第12版、P912、北隆館、1965)であつて、ビートモスともいわれ(大百科事典、355頁、1985年6月28日平凡社発行)、自然生息あるいは人工栽培したものを採取して乾燥したものが供給されている。

これを十分吸水させた後、過飽和の水分を除去して、保存容器(ガラス容器、ポリエステル容器、あるいはポリエチレンやビニール袋など)に入れ、これに保水剤の割合が0.01~0.3重量%になるように水を加えてミズゴケに十分混合する。なお、ミズゴケは105℃の温度で24時間乾燥して絶乾状態としたものを基準とした。

また、乾燥していないミズゴケが入手できる場合にはそのまま使用することができる。

そして、少量の水に懸濁した前記線虫を加えて、2~8℃の定温条件で保存する。なお保存容器に微量の空気の交換が可能なもの例えばシリコ栓なども使うことが出来る。

回収方法

乾燥条件下では、捕まえた水分を放出する放湿能力も具備し、吸湿、放湿を繰り返すことにより、適度な湿度条件を創出することができるので好ましい。

高吸水性ポリマーの形状は、微粉状、粉状、粒状、顆粒状、シート状などがある。

保水剤としての高吸水性ポリマーはミズゴケに対して0.01~0.3重量%の割合で添加して使用される。

昆虫寄生性線虫

本発明が対象とする昆虫寄生性線虫は、特に限定されるものではないが、ドックフード培地、チキンガット培地(スポンジ)、サナギ粉培地(スポンジ)等の人工培地あるいは虫体内で増殖、生産された *Steinernema feltiae* (DD-136, Mexican, All), *S. bibionis*, *S. glaseri*, *Heterorhabditis heliothidis* 等である。

保存方法

ミズゴケは各地の湿地や腐植土上に群生する

ドックフード、チキンガット、サナギ粉等の人工培地あるいは虫体内で増殖、生産された線虫を、20~25℃の恒温室内で、ベールマン法(サラシ布かティッシュペーパー等で包んだ培地あるいは虫体をロートの上に置き水を浸す方法)によつて回収する。

保存線虫の殺虫力テスト

前記方法によつて保存した線虫の殺虫力を調査するために、別に人工飼育および天然から採集したハスモンヨトウ、コガネムシ等の幼虫でテストする。これらの幼虫を水で湿らせたシャーレなどの容器に1頭ずつ入れ、これに回収した線虫を100~1000頭範囲内で一定量接種する。そして20~25℃の恒温室内に入れて供試幼虫の死亡数を数日間にわたつて調査する。

以下、実施例によつて、本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

実施例

供試虫数

チヤンガット培地で人工増殖した *Steinernema glaseri* を増殖培地からベールマン法で回収して供試した。

供試媒体物

保存のための媒体として、ミズゴケに保水剤の割合が0.2重量%となるように水を加えて調整したゲルを添加し使用した。なお保水剤としてポリアクリル系の高吸水性ポリマー「アランープ G E R 7 1 3」(荒川化学物製)を、また、ミズゴケは24時間浸漬して十分に飽和状態になったものを、手で固くしぼり、余分の水を除去したのち保存容器(100mlの三角フラスコ)に5gずつ入れた。そして保水剤のゲルを4.5ml注入し、ミズゴケに十分混合した。

保存方法

媒体物を充填した前記三角フラスコへ供試線虫 1×10^4 頭を2mlの水に懸濁して注入し、シリコ栓で蓋をして5℃の定温庫で保存した。6ヵ月間保存して線虫の生存率を調査した結果を

表-1に示す。

保存媒体物としてミズゴケに保水剤を添加し使用した場合には、ミズゴケを単体で使用した場合に比較して生存率が増大した。

表-1 保存線虫の生存率

保存媒体物	保 存 期 間	
	3 ヵ月	6 ヵ月
ミズゴケ+保水剤	86%	83%
ミズゴケ(単体)	84%	70%

保存線虫の殺虫力テスト

人工飼育したヘスモンヨトウの3齢幼虫を、水で湿らせたろ紙を敷いたシャーレ(直径9cm)に1頭ずつ放し、これに、それぞれの媒体物で6ヵ月間保存していた線虫を1000頭ずつ接種した。

25℃の恒温室内に置いて、5日間のヘスモンヨトウの死亡率を調査した結果、保存した線虫は100%の死亡率をもたらした。

〔発明の効果〕

殺虫剤として利用することのできる、昆虫寄生性線虫を保存するための媒体物として、ミズゴケに保水剤を添加して使用することが極めて有効であり、さらに長期間にわたって保存した線虫は極めて高い殺虫力を維持していることが明らかになった。

本発明を使用することによつて、生き物である昆虫寄生性線虫を生物的防除法として利用することが極めて容易になった。

特許出願人	王子製紙株式会社
代 理 人	中 本 宏
同	井 上 昭
同	吉 嶺 桂